



DERMATOFÜÜTIA DIAGNOSTIKA LABORIS

Helle Järv, laborispetsialist

SYNLAB Eesti

Täna sed teemad

- 1. Dermatofüütidest põhjustatud infektsioonid**
- 2. Muud seened naha ja küünte haigustekitajatena**
- 3. Laboratoorne diagnostika erinevate haigusvormide korral**
- 4. Diagnostika algoritm – kuidas kombineerida laborianalüüse**
- 5. Resistentsus ravimitele ja ravimtundlikkuse uuringud**

Dermatofüüdid ehk nahaseened

Seeneperekonnad *Epidermophyton*, *Lophophyton*, *Microsporum*, *Nannizzia*, *Paraphyton*, *Trichophyton* on võimelised lagundama keratiini toitainete saamiseks

- **Geofiilsed dermatofüüdid** (*Nannizzia gypsea*)

- **Zoofiilsed dermatofüüdid** –

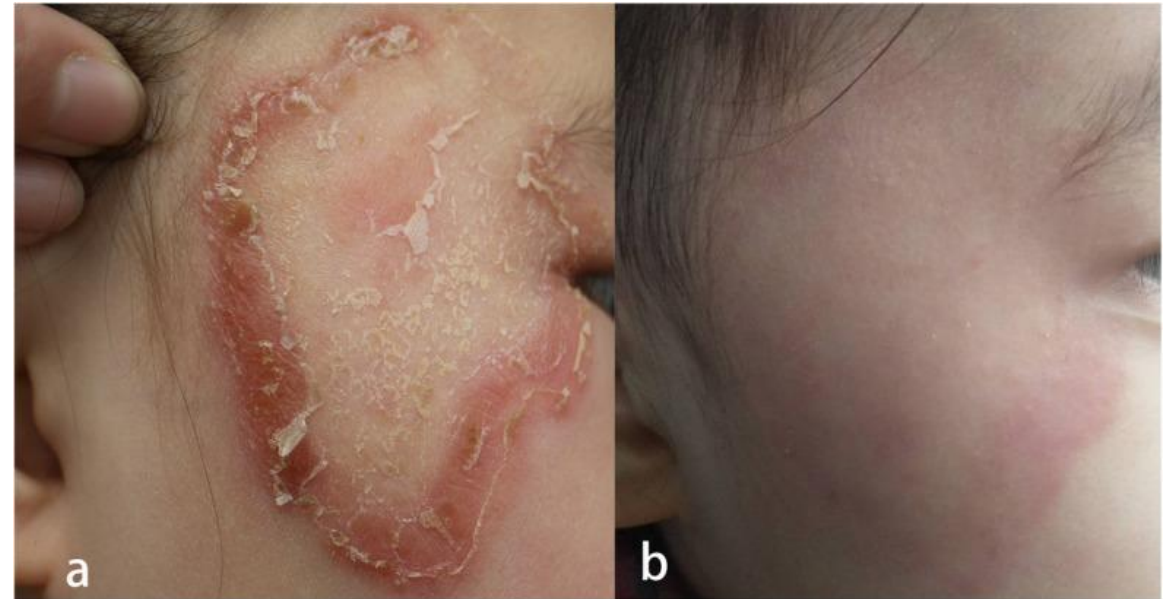
Microsporum canis – kassid, koerad (nn. kassihaigus), *Trichophyton mentagrophytes* – väikesed närilised, küülikud; **UUS PATOGEEN!** *Trichophyton benhamiae* - merisead; *Trichophyton erinacei* - siilid; *Trichophyton verrucosum* – veised ja hobused

- **Antropofiilsed dermatofüüdid** – *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton violaceum* **UUS PATOGEEN!** *Trichophyton indotineae*

Silenaha dermatofüütia

- Zoofiilsed dermatofüüdid tekitavad ägeda põletiku
- Antropofiilsed dermatofüüdid pigem kroonilise protsessi, mida iseloomustab ala-äge kulg
- NB! Patsient võib olla varem ravitud, enne kui Teie temaga kohtute (hormoonravi on sageli esmane lähenemine st. põletikunähud on minimaalsed ja tüüpilist haiguspilti pole)
- Räägitakse nn. vasaku kehapoole dermatofüütiast - väikeste lemmikloomade poolt tekitatud seeninfektsioon

Oluline on võtta patsiendilt anamnees: sümptomite kestus, harjumused (spordiga tegelemine, reisid), kontaktid loomadega



Kliiniline pilt *T. benhamiae* haigusjuhu korral a Haiguskolle põletikulise servaga, keskosas kuiv ketendus (3 cm × 5 cm)
b Ravijärgne pilt haiguskoldest - 4 nädalat terbinafiini p/o (125 mg/d)

Allikas BMJ Infect Dis 2020; 20:171

Silenaha dermatofüütia epidemioloogiast

- **Lapsed – prevaleerivad zoofiilsed patogeenid** - *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. benhamiae*

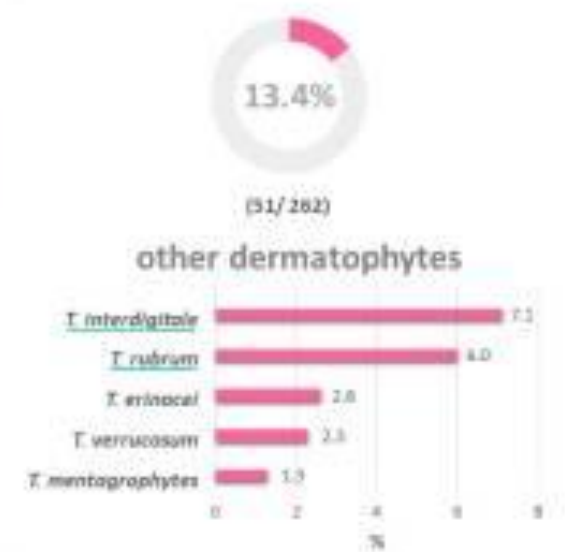
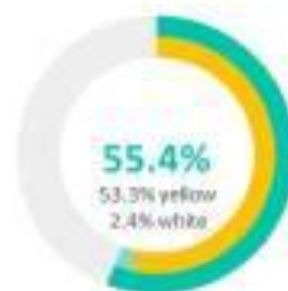
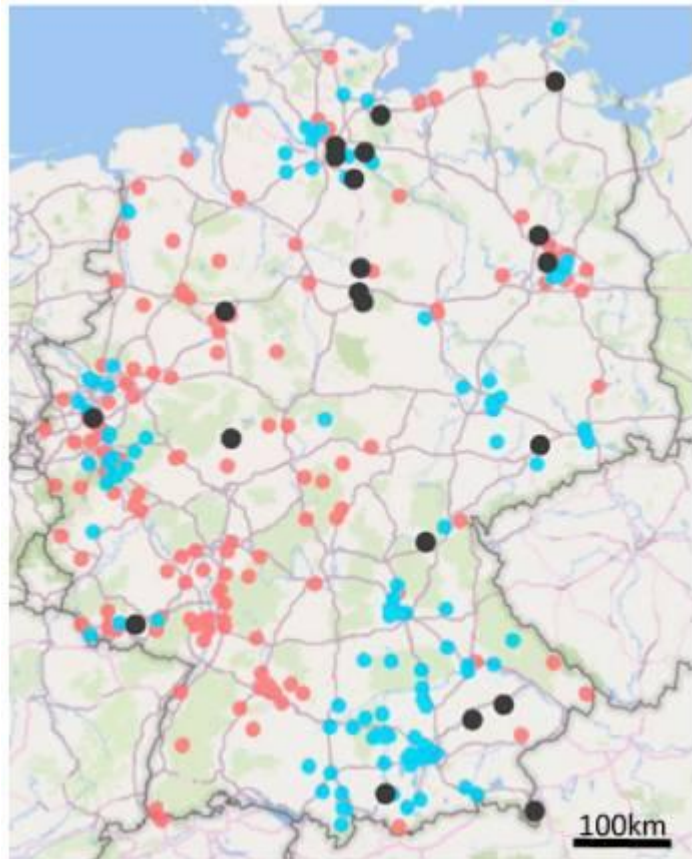
- **Täiskasvanud – prevaleerivad antropofiilsed tekitajad**

Grupp I - täiendavatele riskifaktoritega täiskasvanud - spordiga tegelejad, teatud elukutsete esindajad *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *Epidermophyton floccosum*

Grupp II – ravimata jalgade ja varbaküünte seenhaigusega patsiendid, kellel varem või hiljem nakkus kandub silenahale; valdavalt *T. rubrum* infektsioon

Grupp III - eksootilised tekitajad *T. indotineae*, *T. violaceum*, *T. soudanense*

Silenaha dermatofüütia epidemioloogiast – patsiendil on uus lemmikloom? *Trichophyton benhamiae* levik merisigadel (381 looma) Saksamaal, 2019



Silenaha dermatofüütia e. *tinea corporis* Kliinilised sümptomid on mitte-spetsiifilised



Fig. 1 Typical annular dermatophytosis of the glabrous skin



Fig. 7 Erythema migrans of the thigh. Histology of the border reveals the absence of dermatophytes

„Uued“ dermatofüüdid levivad epideemiliselt & pandeemiliselt I

- Alates 2015 aastast on dermatoloogia eksperdid juhtinud tähelepanu uue liigi *Trichophyton indotinea* esilekerkimisele, esmalt Aasias Indias, kuid käesolevaks hetkeks 2025 aastaks juba 6 kontinendil
- Liik *Trichophyton indotinea* põhjustab laiaulatuslike koldeleidudega kehanaha dermatofüütiat, mis allub halvasti ravile ja annab sageli haiguse uusi episoode (relapse)
- Kliinilised nähud võivad olla erinevad ja ebatüüpilised (eriti kui ravitud esmalt lokaalselt steroidhormooniga)
- Levib otse kehalise kontaktiga (näiteks pereliikmete vahel), aga ka hügieenitarvetega
- Ravim-resistentne terbinafiinile ja/või itrakonasoolele

Rajagopalan et al 2018. Expert Consensus on The Management of Dermatophytosis in India (ECTODERM India) BMC Dermatology 18:6



Foto 1. Bishnoi et al. 2018. Emergence of recalcitrant dermatophytosis in India. Lancet

Foto 2 Dr Pietro Nenoff (loeng Tallinn ENSAS konverentsil sept 2019)

Dermatofüüdid levivad epideemiliselt & pandeemiliselt II

- Vt lisainfo saamiseks ka American Academy of Dermatology AAD ohtlike haiguste registri kodulehte <https://www.aad.org/member/clinical-quality/clinical-care/emerging-diseases/dermatophytes/recognizing-trichophyton-indotineae>
- Dermatofüüdid tuleb kindlasti identifitseerida liigi tasemel (külvi meetodil, DNA sekveneerimine)
- Võimalusel määrata haigustekitaja ravim tundlikkus skriining v MIK meetodil ning vajadusel teostada SQLE geeni mutatsioonide analüüs, mis võimaldab valida optimaalse raviskeemi
- Näidustatud on lokaalse ja süsteemse ravi kombineerimine, sageli ka mitme seenevastase toimeainega v kõrgendatud doosis
- Võimalusel võtta patsiendilt põhjalik anamnees ja püüda selgitada nakatumisteed (reiside ajalugu, seksuaalsed kontaktid jm) ning vajadusel ravida ka kontaktseid isikuid
- Ravi ajal on kõrgendatud tähelepanu hügieenil – voodipesu pesta $>60^{\circ}\text{C}$, mitte jagada kamme, juukseharju jms

Peanaha dermatofüütia e. *tinea capitis* Kliinilised sümptomid on mitte-spetsiifilised



Fig. 3 Alopecic tinea capitis lesion due to *M. canis*



Fig. 19 Alopecia areata. The presence of exclamation marks, as well as the absence of superficial desquamation and erythema is not in favor of a dermatomycosis by *M. canis*

Peanaha dermatofüütia epidemioloogiast

- **Lapsed** – enne puberteeti prevaleerivad zoofiilsed tekitajad, Eestis kõige sagedasem *Microsporum canis*
- **Täiskasvanud** - zoofiilseid tekitajaid esineb harva. Kõige sagedasemad on *T. tonsurans* infektsioonid sportlastel (nii peanahal kui kogu kehal).

T. tonsurans on peamine peanaha seenhaiguse tekitaja Ameerika Ühendriikides ja Jaapanis

Mujal Euroopa maades tekitavad peanaha seenhaigust peamiselt immigratsiooniga Aafrikast seotud antropofiilsed seeneliigid

Jalgade dermatofüütia Kliinilised sümptomid on mitte-spetsiifilised



Fig. 2 Athlete's foot intertrigo of the fourth interdigital space



Fig. 17 Pseudomonas intertrigo of the foot. A bacteriological culture will reveal *Pseudomonas* without growth of dermatophytes

Varbaküunte ja sõrmeküunte dermatofüütia e. onühhomükoos Kliinilised sümptomid



Jalgade ja varbaküünte dermatofüütia epidemioloogiast

- Tekitajad on peamiselt antropofiilsed dermatofüüdid
- Peamine tekitaja *Trichophyton rubrum* pärineb Aasiast (> 90% juhtudest)
- Praeguseks on see liik levinud globaalselt – arvatavasti kiirendas levikut pärast II Maailmasõda mandrite vaheliste suurte sõjaväeüksuste ümberpaiknemine
- Sama seen tekitab haiguste jada: jalgade seenhaigus-varbaküünte seenhaigus-sõrmeküünte seenhaigus – silenaha seenhaigus

Eestis teemat uuritud 2000ndate algul:

- Silm, H., Karelson, M., Kingo, K., Järv, H., & Naaber, P. Küüneseenhaigusesse haigestumise sagedus Eestis. Eesti Arst 2003; 82 (5): 375–378.
- Järv, H.; Naaber, P.; Kaur, S.; Eisen, M.; Silm, H. (2002). Varbaküünte seenhaigus Eestis - võrdlus Euroopa maadega. Eesti Arst, 81 (6), 338–342.

Linnakeskkond kui riskifaktor

- Paljajalu käimine – hotellide vaipkatted jm. üldkasutatavad ruumid
- Istmekatted pehmel mööblil teatris, bussis, rongis, lennukis jne.
- Ujulad, spaad, veepargid –
uurimusi kõikjalt maailmast (Euroopa, Araabiamaad, Põhja- ja Lõuna-Ameerika, Jaapan)

- Detandt & Nolard. Fungal contamination of the floors of swimming pools, particularly subtropical swimming paradises. *Mycoses* 1995.
- Kamihama et al. Tinea pedis outbreak in swimming pools in Japan. *Public Health* 1997;111:249e53.
- Hilmarsdottir et al. Dermatophytes in a swimming pool facility: difference in dermatophyte load in men's and women's dressing rooms. *Acta Derm-Venereol* 2005;85:267e8.

Elukutse kui riskifaktor

- Töötajad, kes töökohal kannavad 8-10 h umbseid kummeeritud jalatseid, turvajalatseid
Näiteks toiduainetööstuses, mäetööstuses, põllumajanduses, ehituses
- Sõjaväeteenistus on riskifaktor

Sõduritel on levimus 19% (versus 8-11% üldelanikkond)

lisrealis on sõduritel dermatofüütia levimus isegi kuni 60% uuritavatest!

Cohen et al. Prevalence and risk factors for tinea pedis in Israeli soldiers. Int J Dermatol 2005;44:1002e5

Rannaliiv kui riskifaktor

- Portugali rannaliivas oli uuritud proovides 14 % *Trichophyton* sp. või *Microsporum* sp.
- Liike uuringutes ei määratud, seega pole teada, kas antropofiilsed või zoofiilsed liigid.
- Enamik seniseid uuringuid kasutab külvimeetodit, jääme ootama NGS (*next generation sequencing*) meetodite tulemusi.

- Pereira et al. Microbiological and mycological beach sand quality in a volcanic environment: **Madeira** archipelago, Portugal. *Sci Total Environ* **2013**.
- Sabino et al. Routine screening of harmful microorganisms in beach sands: implications to public health. *Sci Total Environ* **2014**.
- Sabino et al. Pathogenic fungi: an unacknowledged risk at coastal resorts? New insights on microbiological sand quality in **Portugal**. *Mar Pollut Bull* **2011**.

Trichophyton rubrum - küüne seenhaiguse tekitaja ravimresistentsus Euroopas

- 2024-2025 toimus Euroopas **CEDAR** uuring e
Characterization of **E**uropean **D**ermatophyte **A**ntifungal **R**esistance
(uuringu algatas European Academy of Dermatology & Venereology)
- Eesmärk oli kirjeldada ravim-resistentse dermatofüütia probleemi ulatust ja iseloomu küüne seenhaiguse korral
- Kirjeldati põhjalikult patsientide kliinilist leidu, ravi ja ravivastust
- Uuringus osalesid ainult patsiendid, kellel kahtlustati ravim-resistentset dermatofüüti kui tekitajat
- Koguti 10 seene tüve igalt osalevalt maalt (eri keskused), mida analüüsiti resistentsuse suhtes erinevate meetoditega, ka molekulaarselt



CEDAR uuringu esialgsed tulemused

- 88% (61/69) uuringusse valitud patsientidest oli varasemalt saanud ravi terbinafiiniga
- Kokku uuriti 77 seenetüve 5 eri liigist (*T indotineae*, *T rubrum*, *T interdigitale*, *T mentagrophytes*, *T menatagrophytes genotype VII*)
- Tuvastati väga mitmeid mutatsioone, eri liikidel sarnased mutatsioonid skualeeni (*squalene* ingl k) epoksidaasi (SQLE) geenis mida seostatakse resistentsusega
- Euroopas on ravimitele resistentsed peamiselt dermatofüüdid *T rubrum* ja *T indotineae*
- Euroopas esineb liigil *T rubrum* samu mutatsioone (SQLEF397L), mida liigil *T indotineae* seostatakse resistentsusega terbinafiinile

Hiljuti on avaldatud mitmete dermatofüütide liikide kogu genoomi uuringu (WGS) andmed, mis näitavad, et resistentsusgeene kandvad tüved levivad kлонаalselt

- **Klonaalne levik on ohu märk! Näeme resistentsuse jätkuvat kasvu lähitulevikus**

<https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2025.101584>

<https://doi.org/10.1007/s11046-024-00920-8>



LABORATOORNE DIAGNOSTIKA

Proovivõtu vahendid

- Ühekordne põetuslina või paber
- Desinfitseerimisvahend (70% etanool vm.)
- Nüri skalpell
- Pintsetid
- Maniküürikäärid ja/või küünetangid
- Küünelaki eemaldaja
- Ühekordsed küüneviilid
- Pakendis uus hambahari
- Prooviümbrik



Trükised: Arsti meelespea. Proovivõtu juhend.



Dermatofüütide laboratoorne diagnostika

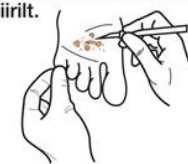
Arsti meelespea



Dermatofüütide diagnostika - mikroskoopia, külv, DNA-analüüs - proovimaterjali kogumine ja säilitamine

NB! Vahetult enne proovimaterjali võtmist tuleks vältida kreemide, ravilaki ja ravimite kasutamist kahjustuskohal. Soovitatav on proovivõtukohta puhastada 70% etanoolis niisutatud vatipadjaga pühkides.

A Kraapida skalpelliga kahjustunud naha sarvkihti, eelkõige haiguskolde servast terve ja kahjustunud naha piirilt.



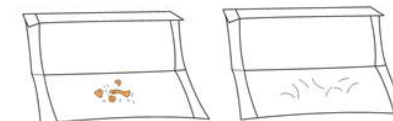
B Proovimaterjal kraabitakse nähtavast kahjustuskohast küünevalli piirkonnas, küüneplaadi pealispinnalt või küüneplaadi alt. Prooviks võetakse nii küünest lihvitud materjal kui mõned suuremad 2-5 mm tükid. Proovi ei võeta küüne sõrmeotsast või varbaotsast üle ulatuvast vabast servast. See eemaldatakse enne proovi võtmist skalpelli, küünetangide, kääride või ühekordselt kasutatava viiliga.



C Peanahal lõigatakse juuksed kahjustuskolde 1-2 cm pikkuseks. Seejärel kraabitakse kahjustuskoldest ketendavat nahka, pintsettidega kitkutakse vähemalt 10 juuksekarva koos juuksejuurega. Kahjustunud juukseid on lihtsam koguda **Woodi lambi** valguses.



Kahjustunud materjal koguda **mustale ümbrikule**. Ümbrik tuleb sulgeda seda kokku voltides ning paigutada saatekirjaga varustatud suuremasse ümbrikusse. Ümbriku sulgemiseks palume mitte kasutada klambreid, kontoriteipe jms. Korrektse uuringu teostamiseks saata laborisse materjali **vähemalt herneterasuuruses koguses**.



Proovimaterjali säilitamine:

Kogutud proovimaterjali võib säilitada kuivas toatemperatuuril kuni 1 nädal, transport toimub toatemperatuuril või jahedas. Prooviümbrikul olevale saatekirjale tuleb ristiga märkida soovitud analüüs ja patsiendi ning analüüsi tellija andmed.

Proovivõtt

- Minimaalne proovi suurus – võrdlevad uuringud puuduvad
- Saksamaa referent-labor (*Consiliary Laboratory for Dermatophytes, Charité – Universitätsmedizin Berlin*) nõuab, et minimaalne proovi hulk oleks 3 mg
- Fotol on minimaalne soovituslik proovimaterjali kogus kui soovitakse nii külvi kui mikroskoopiat või molekulaarset diagnostikat

(Foto H Järv SYNLAB Eesti)



Molekulaarse diagnostika +/-

- Kõrge tundlikkus ja spetsiifilisus
- Lühike analüüsi aeg

Eestis on kasutusel mitmeid tehnikaid

SYNLAB Eestis on kasutusel Seegene analüüsiplatform (reaalaja PCR Novaplex™ Dermatophyte, Lõuna-Korea)

PERH, TÜ Kliinikum kasutavad samuti reaalaja PCR, mis nende masinapargiga paremini sobib (Pathonostics DermaGenius™, Holland)

- Ei sobi ravi efektiivsuse hindamiseks

(näit. lastel peanaha seenhaiguse korral v onühhomükoosi ravikuuri pikkuse korrigeerimiseks)

Dermatofüütide DNA paneeli vastus

Seegen real-time PCR – SAMASTAB KOLM LIIKI JA KOLM LIIKIDE KOMPLEKSI

- **Trichophyton mentagrophytes kompleks**

T mentagrophytes kompleksi kuuluvad liigid *T mentagrophytes*, *T tonsurans*, *T interdigitale*, *T verrucosum*, *T benhamiae*, *T erinacei*

- **Trichophyton rubrum kompleks**

Trichophyton rubrum liikide kompleksi kuuluvad *T. rubrum*, *T. violaceum* ja *T soudanense*

- **Microsporum canis kompleks**

Microsporum canis kompleksi kuuluvad liigid *M. canis* ja *M audouinii*

- **Epidermophyton floccosum**

- **Candida albicans**

- **Trichophyton tonsurans**

Molekulaarse diagnostika plussid ja miinused

Vali molekulaarne diagnostika nendel tingimustel:

- Kui on tüüpiline haiguspilt (näiteks küünes algab nakkus küüne vabaservast või külgedelt) ja eelkõige onühhomükoosi korral (silenaha patogeenide spekter on oluliselt laiem)
- Esmane diagnostika või dermatofüüdi välistamine
- Proovimaterjali on võimalik võtta väga vähe

Fotol tüüpiliselt väljendunud distaalne lateraalne onühhomükoos



Külv ja mikroskoopia - plussid ja miinused

- Mikroskoopial näeb seda, mida me ei otsi (näit. *Malassezia*, *Demodex*, *Sarcoptes* jm.)
- Külvimeetod võimaldab täpsustada ka ebatüüpilise või harvaesineva patogeeni – nii dermatofüüdi kui muud hallitusseente liigid

- Madal tundlikkus
- Külv võtab aega – positiivne vastus minimaalselt 5 päeva, negatiivne vastus 21. päeval
- Saprofüütse floora ülekasv (kroonilised infektsioonid, superinfektsioon)

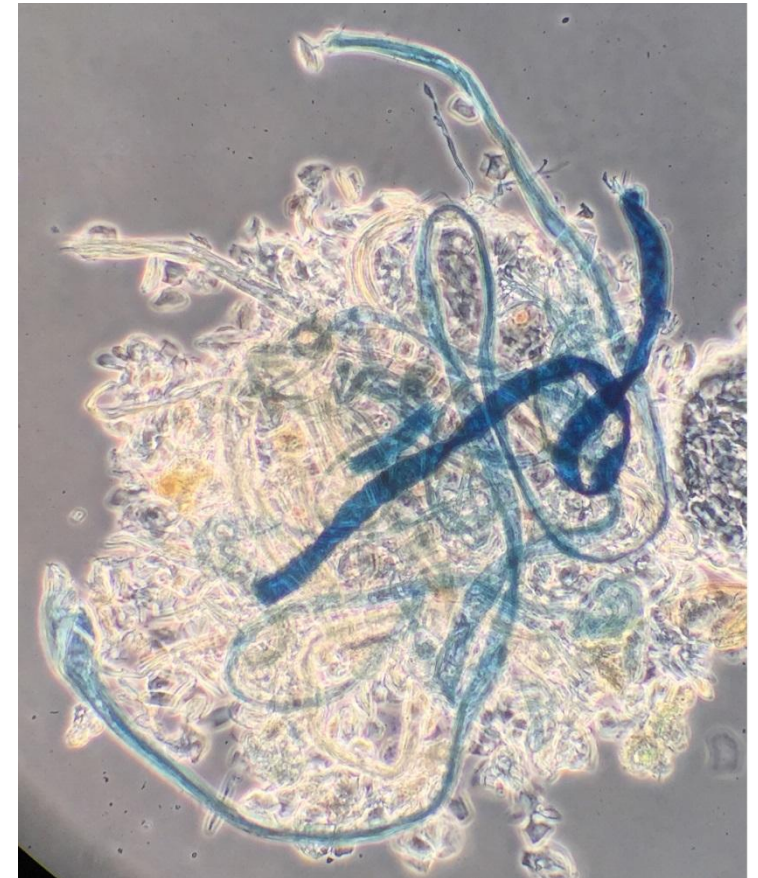
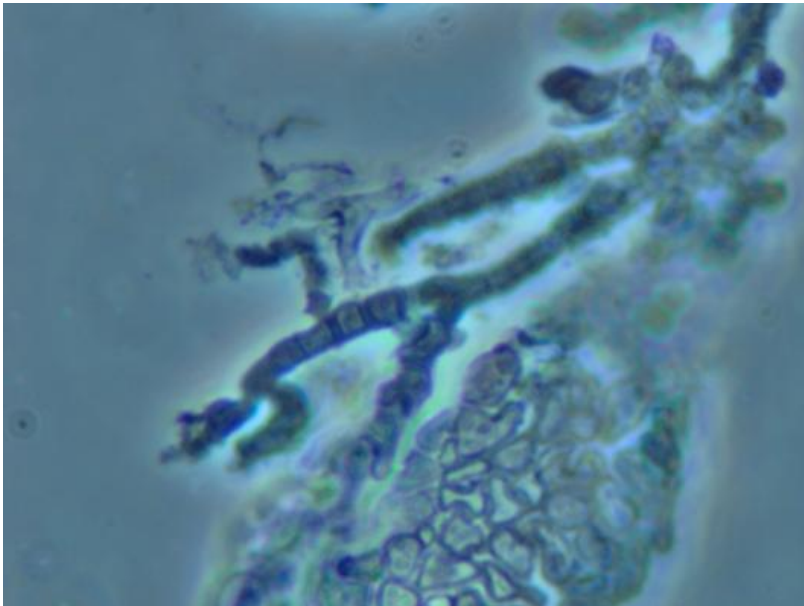
Vali külv ja mikroskoopia nendel juhtudel:

- Kui on ebatüüpiline kliinik, mis sobib pigem hallitusseene või pärmseene poolt põhjustatud infektsioonile - kliiniliselt pindmine valge onühhomükoos (ing. k. *superficial white onychomycosis*) või infektsioon küünevalli piirkonnas
- Kui on zoofiilse patogeeni kahtlus – mõned liigid puuduvad Eestis kasutusel olevates DNA paneelides ja zoofiilsed seened üldjuhul kasvavad külvis kiiresti (u. 5 päeva)

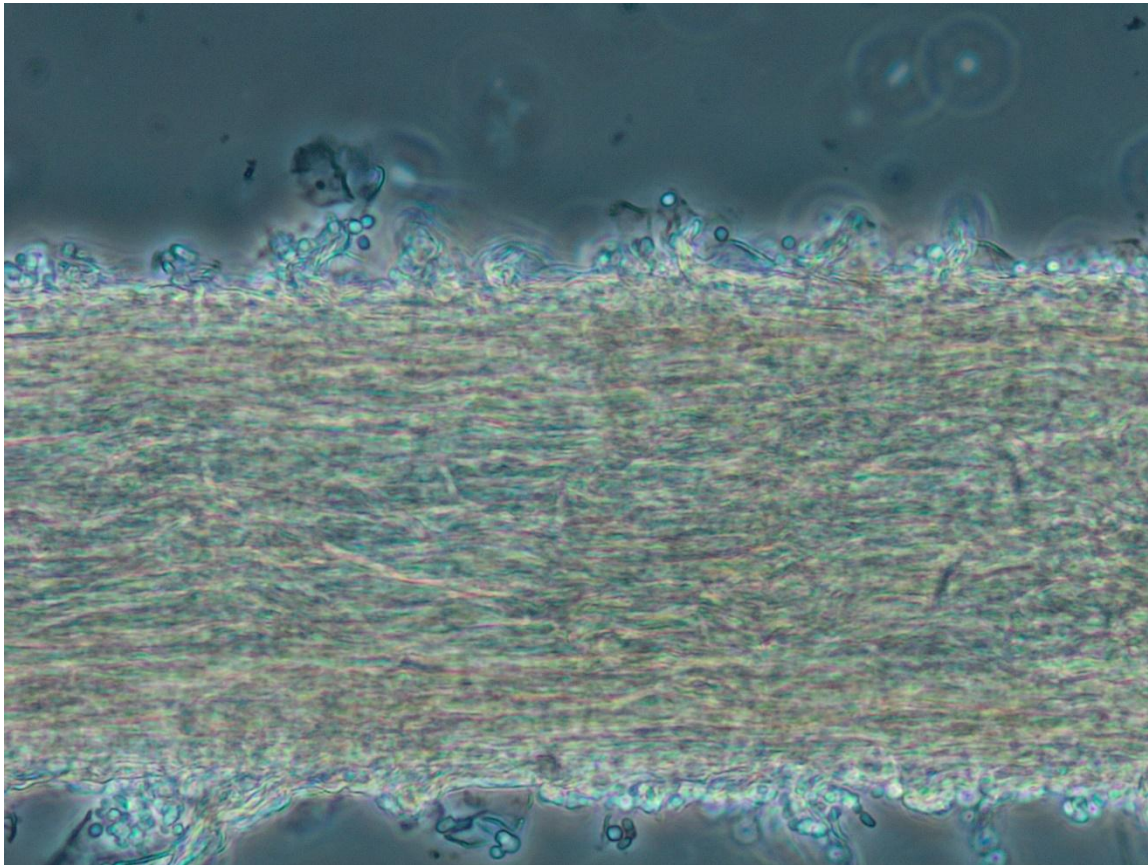


Mis me laboris näeme?

Mikroskoopia leid – seenehüüfid, dermatofüüdi hüüfid ja artrokoniidid



Mis me laboris näeme? Mikroskoopia



- Seenehüüfid/dermatofüüdi hüüfid – leid kinnitab, et tegu on seeninfektsiooniga; enamasti patogeeni liiki määrata ei saa
- Juustel ektothrix-tüüpi kahjustus (fotol) või endothrix-tüüpi kahjustus; piiritleb patogeenide rühma, mis on ravi seisukohalt oluline – peanaha seeninfektsiooni ravijuhise järgi *Microsporum*-infektsiooni esmavaliku preparaat on griseofulviin; *Trichophyton* infektsioonide puhul terbinafiin
- Mikroskoopia leid võimaldab arstil alustada lokaalset ravi (Foto H. Järv/T. Simkin SYNLAB Eesti)

Mis me laboris näeme?

Esmaskülv mikrobioloogia/mükoloogia laboris



Kui proov on võetud korrektselt, kasvab ainult dermatofüüt

- Foto 1 Külv silenahast – *Trichophyton benhamiae*
- Foto 2 Külv silenahast – *Trichophyton mentagrophytes*

(Fotod H. Järv/T. Simkin SYNLAB Eesti)

Esmaskülv mikrobioloogia/mükoloogia laboris



- Kui proov ei ole võetud korrektset e küüneplaati pole enne proovi võtmist desinfitseeritud - vaata fotot!

Kiiresti kasvavad kontaminandid, saprotroofsed hallitusseened, mis sattuvad proovi pinnasest või õhust on laborianalüüsidest probleem – võivad põhjustada vale-negatiivse (aga ka vale-positiivse) tulemuse

Desinfitseeri proovivõtu koht alati kui see on võimalik!

Esmaskülv mikrobioloogia/mükoloogia laboris Patogeense seeneliigi määramine

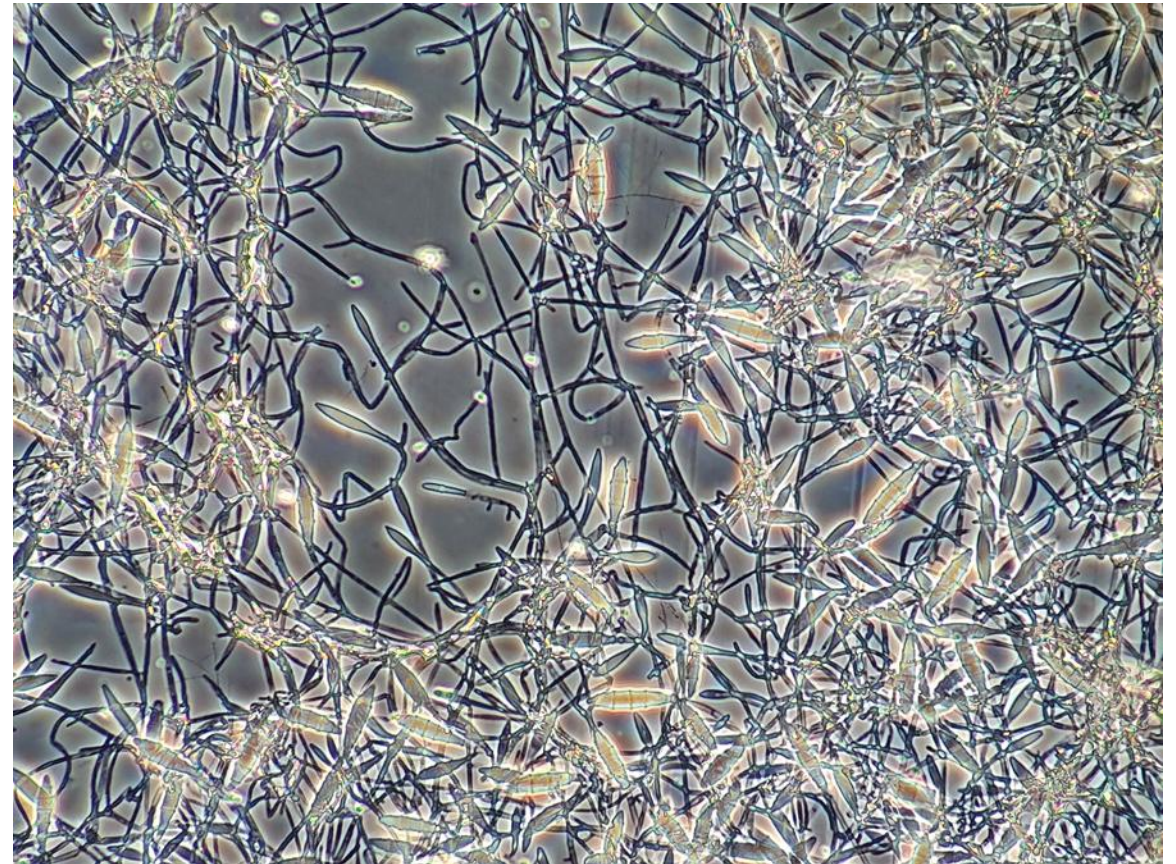
Hindame mikroskoobis seeneliigi
mikromorfoloogilisi tunnuseid:

- makroeoste esinemine
- mikroeoste esinemine
- spiraalhüüfide esinemine/puudumine jne.

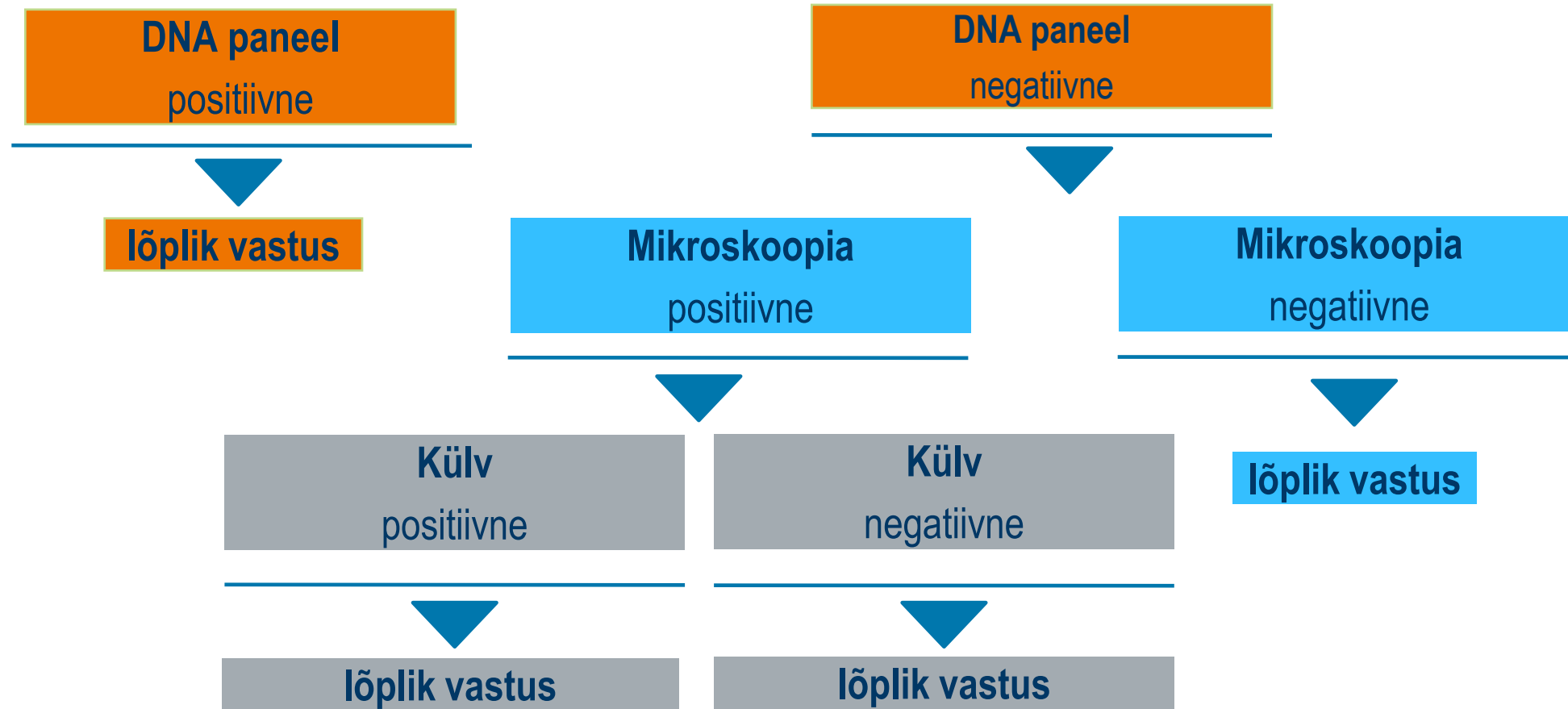
Vajadusel kasutame massispektrite määramist
(MALDI TOF instrument) või DNA
sekveneerimist

Pildil silenahalt isoleeritud geofiilse dermatofüüdi
Nannizia gypsea iseloomulikud makroeosed

(Foto H. Järv/T. Simkin SYNLAB Eesti)



Dermatofüütia laboratoorse diagnostika algoritm

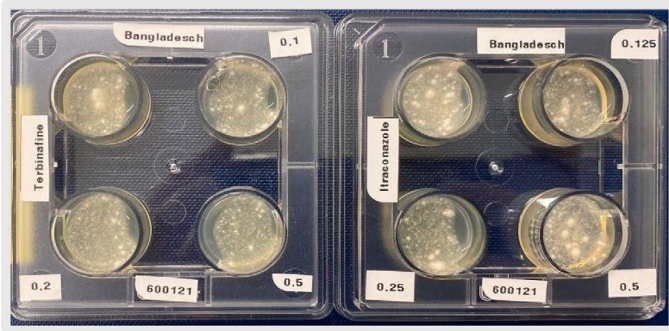


Konservatiivne lähenemine molekulaarsele diagnostikale

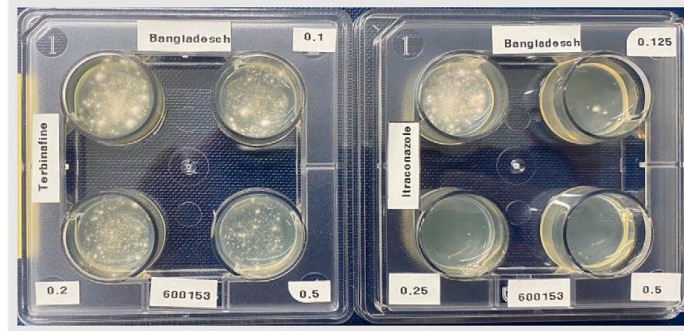
PCR+/mikroskoopia +	PCR-/mikroskoopia -	PCR- /mikroskoopia +
Tüüpiline“ dermatofüüdist põhjustatud onühhomükoos, klassikaline infektsioonipilt, tunnustatud raviskeem	Kliinilise pildi alusel alternatiivne diagnoos	Vajalik täiendavad uuringud, uus proov, mikroskoopia + külv, tundlikum molekulaarne meetod
Onühhomükoos v <i>tinea</i> diagnoos kinnitatud	Seeninfektsioon on välistatud	Ebatüüpiline seeninfektsiooni tekitaja

- Verrier et al. 2017. Mycopathologia 182: 193-202

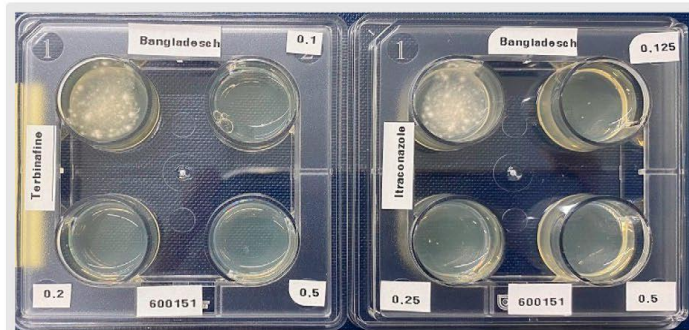
Kuidas dermatofüütide ravim-resistentsust laboris määratakse? Ravimtundlikkuse skriining agar-lahjendus meetodil



(a)



(b)



(c)

Liigi *T. indotineae* ravimtundlikkuse määramine terbinafiinile (vasak testpaneel) and itrakonasoolile (parem testpaneel).

Kasv testplaadi süvendis viitab ravim-resistentsusele ja läbipaistvus viitab, et seene tüvi on ravimile antud kontsentratsioonis tundlik.

- (a) tüvi on resistentne nii terbinafiinile (MIK > 0.5 µg/mL) kui itrakonasoolile (MIK > 0.25 µg/mL);
- (b) tüvi on resistentne terbinafiinile (MIK > 0.5 µg/mL) ja tundlik itrakonasoolile (MIK < 0.1 µg/mL);
- (c) tüvi on tundlik nii terbinafiinile (MIK < 0.1 µg/mL) kui itrakonasoolile (MIC < 0.1 µg/mL)

Ravimresistentsus on probleem

- Küüne infektsiooni puhul on probleemiks hüperkeratoos ja küüne patoloogiad, kus ravim ei jõua küüneplaati
- Dermatofüüdid on muutunud resistentseks kasutatavatele ravimitele – resistentsust terbinafiinile on viimasel 3 aastal registreeritud paljudes Euroopa riikides
- Euroopas on olemas dermatofüütide ravimtundlikkuse määramise standardmetoodika – EUCAST (alates 2020)
- Kommertsiaalsed meetodid dermatofüütide ravimtundlikkuse määramiseks ilmusid turule 2025
- Molekulaarselt resistentsusgeenide (SQLE mutatsioonid) määramine on SYNLABs võimalik vahendatava analüüsina Saksamaale (alates 2020)
- Dermatofüütide ravimtundlikkuse määramisega alustame SYNLAB Eesti laboris 2025 aasta detsembris

Täna tähelepanu eest!

Püsime terved!